Aus dem physiologischen Institut der Universität Basel
Direktor: Prof. Dr. F. Verzár

Die Wirkung von schwerem Wasser (D_2O) auf Herz, Muskel und Nerv

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

CARL HAFFTER
von Weinfelden (Thurgau)

Buchdruckerei Frei, Wehrli & Früh, Sirnach
1936

Aus dem physiologischen Institut der Universität Basel
Direktor: Prof. Dr. F. Verzár

Die Wirkung von schwerem Wasser (D_2O) auf Herz, Muskel und Nerv

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

CARL HAFFTER
von Weinfelden (Thurgau)

Buchdruckerei Frei, Wehrli & Früh, Sirnach
1936

Von der medizinischen Fakultät Basel genehmigt
auf Antrag von Prof. Dr. F. Verzár.
Tag der Promotion: 25. III. 1936.

Inhalt

Seite

I. Einleitung 5

II. Frühere Untersuchungen 8
1) an Pflanzen 8
2) an Tieren 9
a) an ganzen Organismen 9
b) isolierte Organe 11

III. Eigene Versuche 12
1) Versuchsplan 12
2) Herstellung der Lösungen 13
3) Versuche am isolierten Herzen 14
a) Methode 14
b) Versuchsergebnisse 22
c) Diskussion 25
4) Versuche am isolierten quergestreiften Muskel . 27
a) Methodik 27
b) Versuche 27
c) Diskussion 33
5) Versuche am isolierten Nerven 34
a) Methodik 34
b) Ergebnisse 35
6) Zusammenfassung 35

IV. Literatur 36

I. Einleitung.

Nachdem schon Allison die Existenz eines schweren Wasserstoffisotops vermutet hatte, gelang Urey, Brickwede und Murphy (1932) der spektralanalytische Nachweis des schweren Wasserstoffs. Sie gelten daher mit Recht als seine Entdecker. Der schwere Wasserstoff nimmt unter den Isotopen eine Sonderstellung ein. Die übrigen Isotope sind den Atomen, denen sie zugehören, sehr ähnlich, da die Differenz im Atomgewicht um eine Einheit (bezogen auf Sauerstoff = 16) relativ zu klein ist, um die Eigenschaften des Isotops deutlich zu ändern. Beim Wasserstoff macht diese Differenz um eine Einheit gerade das Doppelte des Atomgewichts aus; sie ist daher erheblich genug, um dem Isotopen Eigenschaften zu geben, die von denen des gewöhnlichen Wasserstoffs beträchtlich abweichen. Dies rechtfertigt auch, dass man das Wasserstoffisotope nicht, wie es sonst üblich ist, durch das mit dem Index des Atomgewichts versehene Symbol des Stammatoms bezeichnet, sondern ihm ein besonderes Symbol und einen eigenen Namen gegeben hat, wie wenn es sich um ein neues Atom handeln würde. Der von Urey vorgeschlagene Name «Deuterium» hat sich gegenüber dem «Diplogen» der Engländer wohl definitiv durchgesetzt, und an Stelle des anfangs benützten H^2 ist das Symbol D getreten.

Von den Verbindungen des schweren Wasserstoffs wurde bisher am meisten das Oxyd D_2O, das schwere Wasser (heavy water, eau dense) untersucht. Dieses ist darum von Bedeutung, weil es sich im natürlich vorkommenden Wasser überall in Mengen von 1 : 5000 vorfindet (daneben auch die Verbindung HDO). Als sich zeigte, dass die physikalischen und chemischen Eigenschaften von D_2O Unterschiede gegenüber denen von H_2O aufweisen, lag es nahe, auch nach dem Verhalten von Organismen im schweren Wasser zu fragen. Schon der erste biologische Versuch, den Lewis mit Tabaksamen anstellte, zeigte deutlich, dass für Lebensvorgänge

schweres und leichtes Wasser durchaus nicht gleichwertig sind. Das gab den Anstoss zu einer grossen Zahl von biologischen Untersuchungen, die hier im Wesentlichen referiert werden sollen. Unter diesen Arbeiten sind von besonderem Interesse diejenigen, die sich mit dem Einbau des schweren Isotops in lebende Organismen befassen. Denn bei dem ausgesprochenen Wahlvermögen der lebenden Zelle ist es möglich, dass die Zelle die beiden Isotopen verschieden behandelt, ja dass vielleicht auch bei der Verwendung anderer Isotope die Zelle eine Auswahl trifft. Damit würden sich für die Biologie eine Reihe neuer Probleme und Erkenntnismöglichkeiten ergeben.

Physikalische und chemische Verschiedenheiten. Von den physikalischen und chemischen Eigenschaften des schweren Wassers seien hier in einer Tabelle diejenigen zusammengestellt, die für den Ablauf biologischer Prozesse am ehesten von Bedeutung sein können. Zum Vergleich sind die entsprechenden Konstanten von H_2O daneben gesetzt (Zahlen dieser Tabelle nach der Zusammenstellung von Urey und Teal[48]).

	H_2O	D_2O
Schmelzpunkt	0	3,82
Siedepunkt	100	101,42
Dichtemaximum	4	11,6
Dielektrizitätskonstante	81,5	80,7
Viscosität bei 20° C	10,09	12,6
Oberflächenspannung * (in dyn/cm)	72,8 ± 1	72,6 ± 1
Wanderungsgeschwindigkeit bei 18° C		
in H_2O bezw. D_2O für K^+	64,2	54,5
Cl^-	65,2	55,3
H^+ bezw., D^+	315,2	213,7
Löslichkeit bei 25° C für NaCl	0,359	0,305
$BaCl_2$	0,357	0,289
Dissoziation	$1{,}04.10^{-14}$	$0{,}33.10^{-14}$

* Neuere Angabe von Lachs und Minkow[30]).

Es sei besonders auf das Verhalten der Viscosität, der Löslichkeit von Salzen und Wanderungsgeschwindigkeit von Ionen aufmerksam gemacht. Weitere interessante Abweichungen ergeben sich für die Quellung von Gelatine, die in schwerem Wasser um etwa 15 % geringer ist (Woodard und Chesley[53]), für die Mutarotation der Glucose, deren Geschwindigkeit nur 32 % der in gewöhnlichem Wasser gemessenen beträgt (Pacsu[38]), endlich für die Inversion von Rohrzucker, die durch D· Ionen 1,4 bis 1,8 mal so schnell wie durch H- Ionen katalysiert wird (Steacie[45]).

Enzymatische Prozesse: Von besonderer biologischer Bedeutung sind die Veränderungen, die enzymatische Prozesse erleiden. Die meisten der bis jetzt untersuchten zeigen in D_2O eine Verlangsamung, so die Gärung des Rohrzuckers unter Einwirkung von Hefe (8 mal verlangsamt), wobei gleichzeitig die Atmung der Hefe etwas herabgesetzt ist (Barnes und Larson[10]), ferner die Inversion von Rohrzucker durch β-H-Fructosidase (4 mal verlangsamt) (Steacie[45]), sowie die Verdauung von Stärke durch Pancreasamylase (Barnes und Larson[10]). Im Gegensatz dazu verläuft die Spaltung von Salicin durch Emulsin um 25 % schneller (Steacie[45]). Das System Luciferase-Luciferin (aus Cypridina) verhielt sich in 18 % D_2O wie in gewöhnlichem Wasser, in 81 % D_2O war die gesamte emittierte Lichtmenge um 19 % grösser, die relative Geschwindigkeit der Lichtemission gegen Versuchsende kleiner. Keine Veränderung zeigte die Glycolyse im Blut unter Einfluss von höheren Konzentrationen D_2O (36 % und 73 %) (Brandt[16]).

Vorkommen. Eine Grundfrage war die nach dem D_2O-Gehalt der natürlich vorkommenden Wasserarten, und damit die Frage, ob sich überhaupt in der Natur die verschiedene Reaktionsweise von H_2O und D_2O in biologischen Vorgängen irgendwo auswirkt. Eine geringe Erhöhung gegenüber der Dichte des gewöhnlichen Wassers, aus der auf Anreicherung von schwerem Wasser geschlossen werden kann, fand sich nur im Wasser des toten Meeres, im Kristallwasser verschiedener Mineralien und in Faser und Saft der Trauerweide. (Zusammenstellung bei Farkas[2]).

Eine etwas andere Fragestellung leitete die Untersuchungen von Erlenmeyer und Gaertner[21]) über das Wasser der Kuhmilch, die ergaben, dass selbst bei einem so komplizierten Vorgang wie dem der Bildung von Milch eine Anreicherung oder Verminderung des schweren Isotops nicht stattfindet.

II. Frühere Untersuchungen.

Die vielen Arbeiten, die über die Wirkung von D_2O auf pflanzliche und tierische Organismen schon vorliegen, sollen hier nicht einzeln besprochen werden. Es sei für alle Einzelheiten auf die in der Literaturzusammenstellung genannten Uebersichtsreferate[1–7] verwiesen.

1) Versuche an Pflanzen.

Seit dem bekannten Versuch, den Lewis[31]) mit Tabaksamen anstellte, wurde noch an vielen andern Pflanzen eine hemmende Wirkung hoher Konzentrationen (40—100 %) von D_2O auf Wachstum[14]), Keimfähigkeit[18]), [40]) und Atmung[10]) beobachtet. Niedrige Konzentrationen waren entweder ohne Einfluss[19]), [25]) oder zeigten fördernde Wirkungen auf Wachstum[23]), [36]), [12]), [28]), [37]), Lebensdauer[10]) oder Giftresistenz[33]).

Arbeiten von Reitz und Bonhoeffer[42]) verfolgten Austausch und Einbau von D- Atomen. Beim Wachstum von Hefe in D_2O-reichem Wasser, aber auch schon beim Schütteln von Hefe, Cellulose, Zucker oder Eiweiss mit solchem Wasser werden etwa 30 % der H- Atome durch das Isotop ersetzt. Diesem Austausch, der durch Schütteln in H_2O wieder rückgängig zu machen ist, unterliegen alle H- Atome, die an O oder N gebunden sind, dagegen die an C gebundenen nur dann, wenn dem C- Atom eine C=O Gruppe benachbart und eine Enolisierung möglich ist.

Algen, als assimilierende Pflanzen, ersetzen, wenn sie in schwerem Wasser wachsen, einen höheren Anteil ihrer H- Atome. Dieser Einbau ist durch Schütteln nicht auswaschbar.

2) Versuche an Tieren.

a) An ganzen Organismen.

Auch hier sei auf die erwähnten Uebersichten verwiesen. Es liegen bei Wirbellosen Versuche vor an Protozoen [9]), [25]), [47]), Echinodermen [34]), Würmern [10]), [32]), [47]), Arthropoden [22]), [29]), [39]), bei Wirbeltieren an Fischen und Kaulquappen [47]), Amphibieneiern [49]) und Mäusen [24]), [32]), die zeigen, dass D_2O auf tierische Organismen ausnahmslos schädigend, in höheren Konzentrationen letal wirkt. Versuche an Tumoren [41]), [46]), [52]) zeigten ein negatives Resultat.

Wichtig sind eine Reihe von Versuchen an Säugetieren, die Aufnahme und Ausscheidung des schweren Wassers im Organismus zeigen.

Hevesy und Hofer [26]) benützten Deuteriumoxyd als Indikator für die Geschwindigkeit des Wasseraustausches zwischen Fischen und ihrer Umgebung. Es wurde dem Wasser des Aquariums D_2O in bestimmter Menge zugesetzt und untersucht, nach welcher Zeit die Konzentration im Körper des Fisches und im Aquarium denselben Wert erreicht hatte. Umgekehrt wurden solche mit schwerem Wasser angereicherte Fische in gewöhnliches Wasser zurückgebracht und wieder gemessen, nach welcher Zeit Gleichgewicht eingetreten war. Der Austausch war nach beiden Richtungen in höchstens 4 Stunden beendet. Er dauerte bei grossen Fischen länger als bei kleinen, bei toten länger als bei lebenden. Ebenfalls als Indikator diente das schwere Wasser in den Versuchen von Hevesy, Hofer und Krogh [27]) über die Permeabilität der Froschhaut. Die Durchlässigkeit wurde mit dieser Methode unverändert gefunden, ob sie am ganzen Tier oder der ausgeschnittenen Haut, ob sie von innen nach aussen oder von aussen nach innen geprüft wurde. Kollodiummembranen, die für Proteine gerade nicht mehr durchgängig sind, erwiesen sich als einige tausendmal durchlässiger als die Froschhaut. Der Austausch des Körperwassers durch die Haut hindurch benötigte etwa drei Stunden. Die Versuche von Hevesy und Hofer [26]) über die Verweilzeit des Wassers im menschlichen Körper beweisen eine sehr rasche Verteilung im Organismus. Schon 26 Minuten, nach-

dem die Versuchsperson 2000 ccm von 0,46 % D_2O getrunken hatte, war es im Urin nachweisbar. Die Hauptmenge wurde innerhalb von 14 Tagen, ein kleiner Rest noch über mehrere Wochen hin ausgeschieden.

Die Resorption von D_2O im Darm wurde von Mc Dougall, Verzár, Erlenmeyer und Gaertner[20]) untersucht. Sie brachten in Dünndarmschlingen zweier narkotisierter Ratten 6 bzw. 4 ccm einer blutisotonischen Xyloselösung mit einem D_2O-Gehalt von 1,64 %. Nach einer Stunde wurden die Tiere getötet und der Inhalt der Darmschlingen untersucht. Während die Flüssigkeitsmenge nahezu dieselbe geblieben war, war der Gehalt der Lösung an schwerem Wasser auf 0,07 bzw. 0,05 % gesunken. Da innerhalb der Beobachtungszeit kein Wasserverlust durch den Urin eingetreten war, und da der Wassergehalt des gesamten Tieres gerade so gross ist, um das eingeführte schwere Wasser in dem gemessenen Grade zu verdünnen, lässt sich aus diesen Versuchen schliessen, dass sich das Wasser der Lösung schon nach einer Stunde im ganzen Körper gleichmässig verteilt hat. Die Wasseraufnahme verläuft unabhängig von der Resorption der gelösten Stoffe, da von der Xylose nach einer Stunde nur ein Fünftel resorbiert war. Der Versuch beweist, dass die Darmwand nach beiden Richtungen für Wasser durchgängig ist.

Die Frage, welche Konzentrationen von D_2O auf den Menschen eine Wirkung ausüben, ist noch nicht entschieden. Die 2000 ccm 0,46 % D_2O, die bei den Versuchen von Hevesy und Hofer[26]) gegeben wurden, hatten keine besondere Wirkung. Auch Hansen und Rustung[24]) konnten bei einem Selbstversuch mit 10 g 98,1 % D_2O (auf 77 kg Körpergewicht) nach 1, 2, 4 und 6 Stunden keine Aenderungen an Atmung, Puls, Blutdruck, Blutzucker, Senkungsreaktion, Leucocythenzahl und Blutbild feststellen.

An der Maus hatte Lewis[32]) nach Einnahme von 0,66 g innert drei Stunden eine auffallende Unruhe und erhöhten Durst beobachtet. Hansen und Rustung[24]), die eine Reihe von weissen Mäusen teils durch subcutane Injektionen, teils durch Trinkenlassen vergifteten, kontrollierten den erreichten D- Gehalt durch Analyse der getöteten oder spontan eingegangenen Tiere

und kommen so zu interessanten Schlüssen auf die Wirkung bestimmter Konzentrationen. Die akute Vergiftung, die bei einem D_2O- Gehalt des Körperwassers von etwa 30 % auftrat, äusserte sich in einem stuporösen Zustand, manchmal mit katatoniformen Symptomen. Nach einem Tag war mit dem Abfall der Konzentration auf 17 % wieder normales Verhalten erreicht. Tiere, bei denen der D_2O-Gehalt bis auf ca. 50 % gesteigert war, starben im Koma mit immer flacher werdender Atmung. Chronisch vergiftete Tiere zeigten schäbigen Pelz, Ataxie, Entkräftung, Keratitis, Abnahme der Zahl der weissen Blutkörperchen, besonders der Lymphocyten. Ein Ueberschreiten der Konzentration von 30 % führte nach wenigen Tagen zum Tode. An zwei graviden Ratten liess sich nachweisen, dass das schwere Wasser auch in das Körperwasser der Frucht übergeht und dort die gleiche Konzentration wie im Muttertier erreicht.

b) Isolierte Organe.

Von isolierten Organen sind der Katzendarm, das Vas deferens der weissen Ratte und der Meerschweinchenuterus durch Macht und Davis[35]) geprüft worden. Die angewendete Konzentration von 1 : 2000 ergab keine Reaktionen. Auch Mäuse und Goldfische, ferner Katzen bei intravenöser Applikation blieben bei so verdünnter Lösung unbeeinflusst, und die Wirkung von Digitalistinktur auf den Menschen war nicht verändert, wenn sie 1 : 2000 D_2O enthielt.

Isoliertes Herz. Schon eine Mitteilung von Küchler[29]) über die Wirkung von 10 % D_2O bei Wasserflöhen zeigte einen Einfluss auf die Herzfrequenz. Als erste haben dann Barnes und Warren[11]) drei Versuche am isolierten Froschherz veröffentlicht. Das Herz wurde an einen Glasstab gebunden und ohne Perfusion abwechselnd in gewöhnliche Ringerlösung und in solche mit 20 % D_2O getaucht. Sie sahen in «schwerem Ringer» nach 5 Minuten eine Herabsetzung der Frequenz auf 66 %, beim zweiten Versuch nach 10 Minuten auf 42 % und beim Zurückbringen in gewöhnliche Ringerlösung einen Wiederanstieg auf 58 % des Anfangwertes. Am dritten Herzen liess sich die Be-

schleunigung beim Uebergang vom «schweren» zum gewöhnlichen Ringer zweimal wiederholen. Die ungünstigen Ernährungsverhältnisse des nicht durchströmten Herzens bei dieser Anordnung liessen keine Folgerungen darüber zu, ob durch das schwere Wasser irreversible Schädigungen gesetzt werden.

Eine vorläufige Mitteilung von Versuchen am isolierten Froschherz wurde von Verzár und Hafftter zuerst am XV. Int. Physiologenkongress in Leningrad, 9. VIII. 1935, gemacht, und im September 1935 eine kurze Mitteilung über Versuche am isolierten Froschherz, Muskel und Nerv an Pflügers Archiv f. d. ges. Physiologie [51]) eingesandt. Diese Resultate werden im experimentellen Teil ausführlich besprochen.

Als diese Publikation bereits im Druck war, erschien eine Arbeit von Brandt [17]) über den Einfluss von Deuteriumoxyd auf die Aktion des isolierten Froschherzens. Nach Brandt üben Ringerlösungen mit einem D_2O- Gehalt von 9 % noch keinen mechanisch registrierbaren Einfluss aus; 20 % und höhere Konzentrationen setzen Hubhöhe und Schlagfrequenz herab, und zwar umso stärker, je höher die gewählte Konzentration ist. Bei 99 % stellte sich diastolische Erschlaffung ein, bei den geringeren wirksamen Konzentrationen dagegen eine Zunahme der Tonuslage. Da Brandt in einer früheren Arbeit [16]) gezeigt hat, dass schweres Wasser die Glycolyse im Blut nicht beeinflusst, vermutet er, dass die veränderte Herzaktion nicht auf einer Störung der Stoffwechselvorgänge, sondern auf einem Angriff des D_2O am Muskelelement selber oder auf einer Schädigung eines seiner Reizleitungssysteme liegt.

III. Eigene Versuche.

1) Versuchsplan.

Die Wirkung des D_2O auf den höhern Organismus lässt sich am besten an isolierten Organen untersuchen, an welchen eine gut ausgearbeitete Versuchstechnik erlaubt, Aenderungen geringer Art bereits zu registrieren. Die Untersuchung an isolierten Organen

verspricht dabei eher Aufklärungen grundsätzlicher Art, als die Beobachtung von Erscheinungen am ganzen Körper, die sehr komplexe Ursachen haben können. Deshalb sollte im Folgenden die Wirkung von D_2O am isolierten Herz des Frosches, ferner am isolierten M. sartorius, sowie am N. ischiadicus dieses Tieres untersucht werden.

2) Herstellung der Lösungen.

Das verwendete D_2O stammte aus der Norsk Hydroelektrisk Kvaelstofaktieselskab, Oslo. Seine Dichte war $d\,\frac{20}{4} = 1{,}1049$, entsprechend einer Konzentration von 99,2 %. Nach einer Angabe von Hansen und Blegen[23]) enthielt das 99,2 % Präparat derselben Firma Nitrate in Spuren. Auch wir erhielten mit Diphenylamin eine sehr schwach positive Reaktion. Eine Wirkung dieser geringen Spuren können wir aber ausschliessen, denn wir konnten zeigen, dass Ringerlösungen mit Zusätzen von Natriumnitrat, die sehr starke Diphenylreaktion gaben, noch ohne jeden Einfluss auf das überlebende Froschherz blieben.

Unsere Ringerlösung hatte folgende Zusammensetzung:

NaCl	0,6 %
KCl	0,03 %
$CaCl_2$	0,02 %
$NaHCO_3$	0,02 %

Der Preis des schweren Wassers machte die Herstellung kleiner Mengen von Ringerlösung notwendig. Hierzu gingen wir von einer Stammlösung aus, die nur die Chloride in der angegebenen Konzentration enthielt. Von dieser wurden jeweilig 3 ccm auf dem Wasserbad und dann im Trockenschrank verdampft. Der Rückstand wurde entweder in 2 ccm H_2O oder in 2 ccm D_2O gelöst und dann noch 1 ccm einer 0,06 % $NaHCO_3$ - Lösung zugesetzt, die durch Auflösen von 3 mg $NaHCO_3$ in 5 ccm H_2O bzw. D_2O hergestellt war. Auf diese Weise wurde der Uebergang von Bicarbonat in Carbonat beim Erhitzen in Lösung, sowie die Bildung unlöslichen Calciumcarbonats beim gleichzeitigen Lösen von Bicarbonat und Calciumchlorid vermieden.

Zahlreiche Kontrollversuche mit so hergestellten 3 ccm - Portionen gewöhnlicher Ringerlösung am Straub'schen Herzpräparat zeigten, dass diese Art der Herstellung eine konstante Zusammensetzung der Lösung gewährleistet. Der Ringerwechsel mit verschiedenen solchen Portionen hatte niemals einen registrierbaren Einfluss auf das isolierte Herz.

3) Versuche am isolierten Herzen.

a) Methode.

Die isolierten Herzen wurden mittelst einer Straub'schen Kanüle durchströmt und in einer feuchten Kammer gehalten. Die Ringerlösung in der Kanüle war mit Sauerstoff aus einer Bombe durchperlt. Bei den ersten drei Versuchen wurde eine Suspensionskurve der Herzspitze geschrieben, bei drei weiteren Versuchen Suspensionskurven von Vorhof und Spitze.

1. Versuch, hypodynames Herz (30. VII. 35.)
Spitze suspendiert.

Zeit	Frequenz	Hubhöhe mm	Höhe des Fusspunktes über Null-Linie
14.45	42	18	32
14.46 D- Ringer			
14.48	40	3	32
14.58 u. weitere 50' konstant	34	5	32
15.49	32	5	31
15.50 D- Ringer			
15.51	26	4	32
15.54 u. weitere 50' konstant	28	2	32
16.50	24	2	31
16.55 H- Ringer			
16.56	20	15	31
16.59	26	16	33
17.15	36	17	33
17.34	48	11	33

2. Versuch, frisches Herz (3. IX. 35)
Spitze suspendiert.

Zeit		Frequenz	Hubhöhe mm	Höhe des Fusspunktes über Null-Linie
16.19		36	34	21
16.20	D-Ringer			
16.21		36	23	22
16.22	D-Ringer			
16.23		32	18	21
16.26		26	22	22
16.27	D-Ringer			
16.33		22	25	22
16.34	D-Ringer			
16.48		28	19	22
16.49	H-Ringer			
16.50		36	27	21
16.55	und 16.58 H-Ringer			
16.59		44	28	21
17.01	D-Ringer			
17.02		42	15	22,5
17.04		38	18	21,5
17.05	D-Ringer			
17.06		36	16	21
17.11		34	18	21
17.12	H-Ringer			
17.13		36	28	20
17.15	D-Ringer			
17.16		40	17	21
17.17	H-Ringer			
17.19		40	25	20
17.20	D-Ringer			
17.21		42	15	21
17.45		40	20	20
17.48	H-Ringer			
17.49		38	26	20

Zeit		Frequenz	Hubhöhe mm	Höhe des Fusspunktes über Null-Linie
Gleiches Herz, hypodynam:				
19.59		48	17	20
20.00	D-Ringer			
20.01		48	2	20
20.04		42	3	20
20.05	D-Ringer			
20.09		42	3	20
20.10	H-Ringer			
20.12		42	17	20
20.15		52	13	20

3. Versuch, frisches Herz (4. IX. 35)
Spitze suspendiert.

Zeit		Frequenz	Hubhöhe mm
16.40		40	30
16.42	D-Ringer		
16.43		40	17
16.45		35	20
16.46	D-Ringer		
16.47		30	16
16.48	D-Ringer		
16.49		25	16
16.56	H-Ringer		
16.58		34	28
17.00	H-Ringer		
17.01		40	28
17.33		42	29
17.34	D-Ringer 24,8 %		
17.36		39	26
17.37	D-Ringer 49,6 %		
17.40		40	20
17.41	D-Ringer 74,4 %		
17.45		36	11

Zeit		Frequenz	Hubhöhe mm
17.46	D-Ringer 99,2 %		
17.49		31	5
17.50	D-Ringer		
17.55		29	6
17.57	H-Ringer (nur 0,2 ccm ausgewechselt)		
18.00		33	20
18.01	H-Ringer (0,2 ccm)		
18.05		36	25
18.06	H-Ringer, 0,4 ccm		
18.10		40	26
18.12	D-Ringer		
18.14		39	9
18.16		35	13
18.17—18.29	H-Ringer allmählicher Anstieg auf tropfenweise ausgetauscht	38	23
18.30	H-Ringer, 0,4 ccm		
18.31		38	24

4. Versuch, frisches Herz (13. IX. 35)
Spitze und Vorhof suspendiert.

Zeit		Frequenz	Hubhöhe mm	Ueberleitung sec
10.52		33	22	0,49
10.56	D-Ringer			
10.57		32	13	0,60—0,65
11.00	D-Ringer			
11.02		25	9	0,64—0,70
11.05	H-Ringer			
11.06		31	19	0,56—0,59
11.07	H-Ringer			
11.09		36	21	0,53—0,56

5. Versuch, frisches Herz (23. IX. 35.)
Herzspitze suspendiert.

Zeit		Frequenz	Hubhöhe mm	Ueberleitung sec
16.02		28	75	
16.04	D-Ringer			
16.06		25	67	
16.08	D-Ringer			
16.11		20	42	
16.14	D-Ringer			
16.15	partieller Block?	12	37	
16.20	partieller Block?	12	48	
16.21	H-Ringer			
16.24		29	66	
16.25	H-Ringer			
16.34		39	75	

Herzspitze und Vorhof suspendiert.

17.14		33	60	0,28
17.16	D-Ringer			
17.17		33	25	0,39
17.22	D-Ringer			
17.24		28	14	0,45 —0,48
17.26—17.30	3 mal H-Ringer			
17.31		40	60	0,31 —0,38
18.04		42	50	0,40
18.05	D-Ringer			
18.07		34	14	0,51
18.10	H-Ringer			
18.11		34	40	0,42
18.13	H-Ringer			
18.14		38	39	0,42
9.39	(24. IX. 35.)	32	36	1,10
9.41	**D-Ringer**			
9.42		28	24	1,20

Zeit		Frequenz	Hubhöhe mm	Ueberleitung sec
9.45	Uebergang in 2 : 1 Block	28/14	32	1,12
9.49	H-Ringer			
9.50	normaler Rhythmus	30	33	1,18
10.01		36	26	1,28
10.05	D-Ringer			
10.06		30	17	
10.08	Uebergang in 2 : 1 Block	30/15	21	1,25
10.10		32/16	24	
10.11	Uebergang in 3 : 2 Block	33/22	21	1.28
10.12	Uebergang in 2 : 1 Block	36/18	24	1,20
10.23	D-Ringer			
10.25		32/16	20	1,25
10.26	H-Ringer			
	nach 30" Uebergang in 3 : 2 Block			
10.28	normaler Rhythmus	31	23	1,22
10.31		32	22	1,17
10.35 und 10.37	D-Ringer			
10.48		31	11	1,35
10.50—10.52	3 mal H-Ringer			
10.54		29	15	1,22
10.55		29	14	1,15

6. Versuch, Frisches Herz (6. XI. 35.)
Suspension von Spitze und Vorhof

Zeit		Frequenz	Hubhöhe Kammer	Hubhöhe Vorhof	Ueberleitung
15.40		44	38	30	0,42"
15.59	D-Ringer				
16.01		46	27	19	0,46
16.02	D-Ringer				
16.04		42	11	15	0,58
16.06	D-Ringer				
16.08		38	7	8	0,75
16.13		32	10	5	0,91

Zeit		Frequenz	Hubhöhe Kammer	Hubhöhe Vorhof	Ueberleitung	
16.14	H-Ringer					
16.16		34	36	10	0,58	
16.22			40	12		
16.23	H-Ringer					
16.50		50	40	18	0,35	
17.25		46	35	17	0,32	
17.32	D-Ringer					
17.34		41	13	13	0,56	
17.38	D-Ringer					
17.40		34	3	5	0,80	
17.42	Uebergang in 5 : 4 Block 32/26		8	5	0,88 1,00 1,08 Block 0,80	Wenckebach'sche Periode
17.47	D-Ringer					
17.48	Uebergang in 4 : 3 Block 32/24		7	4	0,80 u. 0,88	
17.49	Uebergang in 3 : 2 Block 32/22		7	4		
17.51	H-Ringer nach 20" normaler Rhythmus.					
17.56		34	39	11	0,44	
18.03		38	40	16		
18.07	D-Ringer					
18.09		36	22	11		
18.11	D-Ringer					
18.13		26	9	8		
18.14	D-Ringer					
18.16		24	7	6	0,68	
18.27	Block 7 : 6 und 8 : 7	28	15 (Vorhof)	3	0,96	
18.31	H-Ringer: sofort normaler Rhythmus					
18.33		28	38	10	0,48	
7. XI. 35, Gleiches Herz						
16.44		34	20	6	0,43	
16.45	D-Ringer					

Zeit		Frequenz	Hubhöhe Kammer	Hubhöhe Vorhof	Ueberleitung
16.47		34	10	5	0,52
16.50	D-Ringer				
16.51		23	6	4	0,56
17.01	D-Ringer				
17.05		26	5	3	0,72

7. Versuch (25. IX. 35.)
Frisches Froschherz an Straubkanüle. EKG. und Mechanogramme von Spitze und Vorhof

Zeit		Frequenz	Hubhöhe mm	Ueberleitung mechanisch	Ueberleitung elektrisch
17.00		40	44	0,28	0,36
17.25	2 mal D-Ringer				
17.35		25	8	0,48	0,60
17.45	3 mal H-Ringer				
17.55		37	45	0,28	0,36

8. Versuch (2. XI. 35.)
Frisches Froschherz an Straubkanüle.
Unpolarisierbare Elektroden an Sinus und Gefässband
Reizung mit Oeffnungsinduktionsschlägen
Bestimmung der Schwelle für Extrasystolen.

Zeit		Frequenz	Hubhöhe mm	Größter Rollenabstand, bei dem noch Extrasystolen auftreten
10.35		45	20	17
10.55		36	24	17
11.05		36	20	17
11.07	D-Ringer			
11.12		25	6	17,5
11.20	D-Ringer			
11.25		17	3	17
11.30	2 mal H-Ringer			
11.35		32	21	17

b) Versuchsergebnisse.

Hubhöhe. Die Versuchsprotokolle und Kurven zeigen, dass beim gut schlagenden Froschherzen regelmässig als erste Wirkung des schweren Wassers eine starke Herabsetzung der Hubhöhe eintritt. Nach einem Wechsel mit 99,2 % «schwerer» Ringerlösung nehmen bereits die nächsten Kontraktionen successive an Höhe ab, und nach 1 Minute ist in der Regel die volle Wirkung eingetreten.

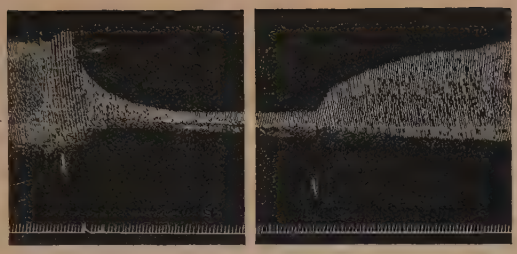
	D_2O	H_2O	D_2O	H_2O	D_2O
Zeit	17,01	17,12	17,15	17,17	17,20

Abb. 1. Froschherz. Frisches Präparat. (2. Versuch.)

Da beim Ringerwechsel die Flüssigkeit nur in der Kanüle, im Lumen der Kammern aber nicht auspipetiert wird, erfährt die zugesetzte Lösung eine Verdünnung auf etwa 75 %. Dementsprechend nimmt der Effekt noch stufenweise zu, wenn nun durch einen 2. und 3. Wechsel der Gehalt der Nährlösung an schwerem Wasser auf 94 und 98 % gesteigert wird. Der dritte Versuch zeigt, dass schon bei einer Konzentration von ca. 18 % im Herzen (nach Wechsel mit 24,8 % D_2O - Ringer) eine deutliche Wirkung eintritt, und dass sie sich mit zunehmender Konzentration verstärkt. Durch allmähliches Ersetzen von D_2O durch gewöhnliches Wasser gewinnt die Amplitude stufenweise die ursprüngliche Höhe zurück (Versuch 3), und beim Auswaschen mit gewöhnlicher Ringerlösung erfolgt die Wiederherstellung innerhalb weniger Minuten.

Wie stark bei einer gegebenen D_2O-Konzentration die Hubhöhe herabgesetzt wird, hängt vom Zustand des Herzpräparates

ab. Am frischen Herzen verminderte sich die Hubhöhe nach mehrmaligem Wechsel mit 99,2 % D_2O-Ringer höchstens auf die Hälfte des ursprünglichen Wertes, am hypodynamen Herzen hingegen auf $^1/_5$ bis $^1/_6$. Versuch 2 zeigt am selben Präparat nacheinander die Wirkung im frischen und im hypodynamen Zustand. (Abb. 1 u. 2).

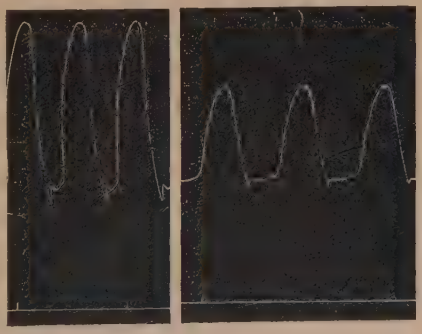


D_2O H_2O
Zeit 20,00 20,10

Abb. 2. Froschherz. Hypodynam. (2. Versuch.)

Herztonus. Ich beobachtete am frischen Herzen stets eine geringe Zunahme der diastolischen Tonuslage, d. h. eine Hebung des Fusspunktes der Kurve, sowohl bei Zusatz von 99,2 % D_2O-Ringer wie auch bei geringeren wirksamen Konzentrationen. (Versuch 2 Anfang, Versuch 3). Am hypodynamen Herzen hingegen blieb der Fusspunkt unverändert. (Versuch 1, Versuch 2 Schluss). Demnach wäre also das Verhalten des Herztonus vom Zustand des Herzens abhängig. Brandt[17]) gibt an, dass das Verhalten des Herztonus von der Konzentration des schweren Wassers der Ringerlösung abhängig sei. Bei geringeren wirksamen Konzentrationen findet auch er Zunahme der Tonuslage, bei 99 % dagegen im Gegensatz zu Obigem diastolische Erschlaffung.

Frequenz. Langsamer als die Amplitude wird die Frequenz des Herzens herabgesetzt, und sie stellt sich nach Auswaschen auch langsamer wieder her. Auch die Herabsetzung der Schlagfrequenz stuft sich entsprechend der Konzentration des schweren Wassers in der Ringerlösung ab. Nach mehrmaligem Wechsel mit 99,2 % D_2O-Ringer war eine Verminderung bis auf



H_2O D_2O

Abb. 3. Froschherz. Frisches Präparat.

die Hälfte der ursprünglichen Schlagfolge zu beobachten. (Abb. 3). Eine noch stärkere Verlangsamung des Ventrikelrhythmus, die dann mit dem Vorhofsrhythmus nicht mehr übereinstimmte, stellte sich in den Versuchen 5 und 6 ein. Diese Erscheinungen von partiellem Vorhofkammerblock sollen im nächsten Abschnitt näher besprochen werden.

Ueberleitungszeit. Die Ueberleitung des Kontraktionsreizes, gemessen als zeitliches Intervall zwischen Beginn der Vorhofskontraktion und Beginn der Kammerkontraktion, zeigt unter dem Einfluss von «schwerer» Ringerlösung eine ausgesprochene Verlängerung (Versuche 4 bis 7). Dieser Effekt ist schon eine Minute nach dem Ringerwechsel deutlich zu sehen, erreicht aber seine volle Ausbildung erst nach 5—10 Minuten. Auch diese Wirkung des schweren Wassers kann durch Auswaschen mit gewöhnlichem Ringer wieder rückgängig gemacht werden. In Versuch 6 gelang es, am selben Herzen zweimal nacheinander, nachdem das schwere Wasser 15 bezw. 19 Minuten eingewirkt hatte, wieder den ursprünglichen Wert der Ueberleitungszeit zu erreichen.

In zwei Versuchen traten unter dem Einfluss des schweren Wassers Störungen des normalen Kammerrhythmus auf, die sich durch gleichzeitige Registrierung von Vorhofs- und Kammeraktion als partieller Vorhof-Kammer-Block erkennen liessen. In Versuch 5 trat der Block bei einem Präparat auf, das schon 17 Stunden isoliert beobachtet worden war und dessen Ueberleitungszeit schon bei Durchströmung mit gewöhnlichem Ringer über eine Sekunde, also abnorm lang war. 4 Minuten nach einmaligem Wechsel mit 99,2 % «schwerem» Ringer trat ein 2 : 1-Block auf. Nachdem er 4 Minuten gedauert hatte, wurde mit gewöhnlicher Ringerlösung ausgetauscht, und nach einer weitern Minute stellte sich der normale Rhythmus wieder her. Noch ein zweites Mal liess sich im selben Herzen durch D_2O-Ringer innerhalb 3 Minuten ein partieller Block erzielen und durch gewöhnlichen Ringer wieder aufheben. Beim 6. Versuch konnten diese Ueberleitungsstörungen auch an einem frischen Präparat mit normaler Ueberleitungszeit reproduziert werden. Der 5 : 4-Block, der dabei zuerst auftrat, gibt einen Aufschluss über die Entstehung der Ueberleitungstö-

rung. Wenn wir 2 Typen der Blockentstehung unterscheiden (Rothberger[44]) von denen der erste mit einem Anwachsen der Ueberleitungszeiten einhergeht, der zweite bei gleichbleibenden Ueberleitungszeiten auftritt, so ist der partielle Block unter Einfluss des schweren Wassers dem häufigeren Typus I zuzurechnen. Denn es liessen sich in diesem Versuch Wenkebach'sche Perioden mit Anwachsen der Ueberleitungszeiten registrieren.

Elektrokardiogramme. Beim 7. Versuch wurde ausser dem Mechanogramm von Vorhof und Kammer auch ein Elektrokardiogramm registriert. Die Aktionsströme wurden mit ringergetränkten Wollfäden über unpolarisierbare Zinkelektroden auf ein Saitengalvanometer abgeleitet. Die Ableitung geschah von Sinus und Spitze. Die Kurven zeigen unter dem Einfluss des schweren Wassers ein deutliches Auseinanderrücken von Vorhof- und Kammerzacken, also eine Verlängerung der Ueberleitungszeit, wie sie sich auch bei mechanischer Registrierung ergeben hatte. (Analoge Ergebnisse hat unterdessen auch Brandt[15]) publiziert).

Erregbarkeit. Der 8. Versuch sollte darüber orientieren, ob schweres Wasser auch die Erregbarkeit des Herzens beeinflusst. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie für die Versuche 1—3; es wurde also nur das einfache Mechanogramm der Herzspitze registriert. Zum Zweck der elektrischen Reizung wurden am Gefässband und am Sinus ringergetränkte Wollfäden angeknüpft, die zu unpolarisierbaren Zinkelektroden führten. Als Reize wurden Induktionsstromstösse verwendet. Jeweilen wurde der grösste Rollenabstand aufgesucht, bei welchem eben noch durch Oeffnungsinduktionsreize Extrasystolen auftraten. Es zeigte sich, dass die so bestimmte Reizschwelle während der ganzen Dauer des Versuchs (1 Stunde) konstant blieb und sich auch nach zweimaligem Wechsel mit 99,2 % D_2O-Ringer nicht änderte.

c) Diskussion.

Schweres Wasser setzt also am isolierten überlebenden Froschherzen die Hubhöhe, die Frequenz und die Geschwindigkeit der Reizleitung herab. Die Tonuslage wird beim frischen und beim

hypodynamen Herzen verschieden beeinflusst: Beim frischen Präparat sind sowohl systolische Zusammenziehung als auch diastolische Erschlaffung vermindert. Beim hypodynamen Herzen wird nur die systolische Zusammenziehung herabgesetzt; der Herztonus verschiebt sich also in Richtung der diastolischen Stellung.

Diese Effekte beginnen unterhalb einer Konzentration von 20 Prozent und steigern sich mit der Anreicherung des schweren Wassers in der Ringerlösung. Der momentane Eintritt der ersten Wirkungen beweist den ausserordentlich raschen Austausch des Wassers im Gewebe. Es ist nun auffallend, dass der Einfluss auf die Kammerkontraktionen sich rascher einstellt und schneller voll ausgebildet ist, als die Herabsetzung der Frequenz und die Verlängerung der Ueberleitungszeit. Das erklärt sich leicht aus der Anordnung des Straub'schen Präparates, bei dem nur die Kammer, nicht aber die Vorhöfe durchströmt werden. Das schwere Wasser gelangt also sofort in direkte Berührung mit der Ventrikelmuskulatur, aber erst durch Diffusion zu Vorhof und Sinus. Eine weitere Illustration dieser Verhältnisse gibt die Ausmessung der Vorhofskontraktionen, die im Protokoll zu Versuch 6 wiedergegeben ist. Die Verminderung der Vorhofskontraktionen tritt mit ähnlicher Verzögerung wie der chronotrope und dromotrope Effekt ein.

Der erste Versuch zeigt, dass die einmal voll ausgebildete Wirkung auf Hubhöhe und Frequenz über eine Stunde konstant bleibt. Die hemmende Wirkung des schweren Wassers lässt sich etwa mit der einer Temperaturerniedrigung vergleichen, wie schon Barnes und Warren hervorgehoben haben. Nichts spricht dafür, dass durch die Anwesenheit des schweren Wassers, selbst in 98—99 prozentiger Konzentration, am isolierten Froschherzen irreversible Schädigungen gesetzt werden.

4) Versuche am isolierten quergestreiften Muskel.

a) Methodik.

Der M. sartorius des Frosches wurde unter Vermeidung von Verletzungen präpariert und in einer 2 ccm fassenden Kanüle in Ringerlösung aufgehängt. Der untere Aufhängepunkt, ein Platinhäkchen, diente zugleich zur Stromzuleitung. Der obere Aufhängepunkt war ein isotonischer Hebel. Als zweite Elektrode tauchte bei einem Teil der Versuche eine Pinselelektrode, später einfach ein Platindraht von oben in die Ringerlösung ein. Gereizt wurde mit Induktionsstromstössen.

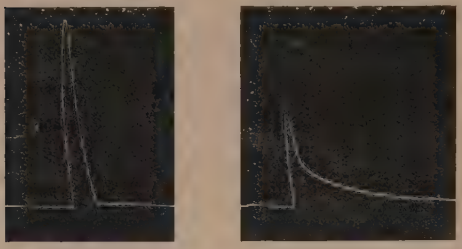
Für die Versuche über Ermüdung wurden die beiden Sartorien desselben Tieres in Kanülen von gleicher Dimension aufgehängt und die Reizanordnungen für die beiden Muskeln hintereinander in den selben Sekundärstromkreis eingeschaltet.

b) Versuche.

Einzelzuckungen bei direkter Reizung. In Versuch 9 und 10 wurde je ein einzelner M. sartorius zuerst in gewöhnlicher Ringerlösung durch maximale Oeffnungsinduktionsreize gereizt, die Hubhöhe und die Form der Zuckungskurve festgestellt. Hierauf wurde die Ringerlösung abgelassen und die Kanüle sofort mit 99,2 % D_2O-Ringer gefüllt. In den folgenden Minuten wurden wiederholt Hubhöhe und Zuckungskurve bei der gleichen Reizstärke wie vorher geprüft.

Bereits eine Minute nach dem Ringerwechsel war die Hubhöhe auf etwa 75 % des Wertes in gewöhnlicher Ringerlösung gefallen. In den folgenden 5 Minuten verminderte sie sich noch mehr und blieb dann bei etwa einem Fünftel des ursprünglichen Wertes konstant. 8 Minuten nach Zusatz des «schweren» Ringers wurde mit gewöhnlichem Ringer ausgewaschen. Jetzt nahm die Hubhöhe wieder zu, bis sie nach weiteren 8 Minuten ein Maximum von 84 % des Anfangswertes erreichte. Der gleiche Effekt, Herabsetzung der Hubhöhe durch D_2O-Ringer und Restitution durch Auswaschen (diesmal noch auf 79 %) liess sich am selben Muskel noch ein

zweites Mal wiederholen. Dass der Anfangswert nicht mehr ganz erreicht werden konnte, erklärt sich aus der Ermüdung, die durch die wiederholten Reizungen eingetreten war.



H_2O D_2O

Abb. 4. M. sartorius. Zuckungen bei maximalen Ö.I.-Reizen. (9. Versuch.)

Gleichlaufend mit der Veränderung der Hubhöhe unter Einfluss des schweren Wassers trat eine charakteristische Aenderung der Zuckungskurve auf.(Abb. 4). Die Erschlaffung des kontrahierten Muskels war stark verlangsamt, sodass der absteigende Schenkel der Kurve in die Länge gezogen wurde. Der gesamte zeitliche Ablauf der Einzelzuckung betrug das 8–10fache der Normalzuckung in gewöhnlichem Ringer. — Bei kurz aufeinanderfolgenden Reizungen stellte sich eine Kontraktur des Muskels (ähnlich einer Ermüdungskontraktur) ein, die sich ohne weiteres aus der verzögerten Erschlaffung erklärt.

Ermüdung durch Einzelreize. In den Versuchen 11—17 wurden die beiden Sartorien eines Frosches in der beschriebenen Anordnung gleichzeitig mit Hilfe eines Metronoms mit Quecksilberkontakt alle 3 Sekunden gereizt. Die Reizstärke entsprach maximalen Oeffnungsinduktionsreizen. Als Belastung wurde in den Versuchen 11—15 8 g gewählt, in Versuch 16 und 17 3,3 g, in Versuch 40 5 g. Die Versuche 11, 15 und 16 wurden als Kontrollen so durchgeführt, dass beide Muskeln während des ganzen Versuches in gewöhnlicher Ringerlösung arbeiteten. Es ergaben sich jeweils durchaus übereinstimmende Formen der beiden Ermüdungskurven.

Bei den Hauptversuchen 12, 13, 14 und 17 wurde so vorgegangen, dass zuerst beide Muskeln in gewöhnlicher Ringerlösung auf gleiche Reizschwellen und gleiche Hubhöhen geprüft wurden. Dann wurde in der einen Muskelkanüle die gewöhnliche Ringerlösung durch D_2O-Ringer ersetzt. In den drei ersten Versuchen

wurde 50-prozentiger D_2O-Ringer verwendet, in Versuch 17 und 40 99,2 prozentiger D_2O-Ringer. 10 Minuten nach dem Ringerwechsel wurde mit der Reizserie begonnen.

Der Vergleich der jeweils gleichzeitig aufgenommenen Ermüdungskurven der beiden parallelen Sartorien ergibt nun Folgendes: Der Muskel in D_2O-Ringer zeigt sofort einen erheblichen Kontraktionsrückstand, während sich beim Muskel in gewöhnlicher Ringerlösung erst allmählich mit zunehmender Ermüdung ein solcher ausbildet. Diese Erscheinung, die schon bei Versuch 9 und 10 besprochen wurde, ergibt sich ohne weiteres aus der verzögerten Erschlaffung. Die Hubhöhe der beiden Muskeln zeigt nun im Verlauf des Versuches verschiedenes Verhalten. (Abb. 5). Ein geringes Ansteigen während der ersten Zuckungen («Treppe») ist bei beiden zu beobachten. Weiterhin aber behält der Muskel in D_2O-Ringer seine Hubhöhe längere Zeit bei als der Kontrollmuskel in gewöhnlicher Ringerlösung. In den drei Versuchen 12, 13 und 14 war am Anfang die Hubhöhe des Muskels in 50 % D_2O-Ringer

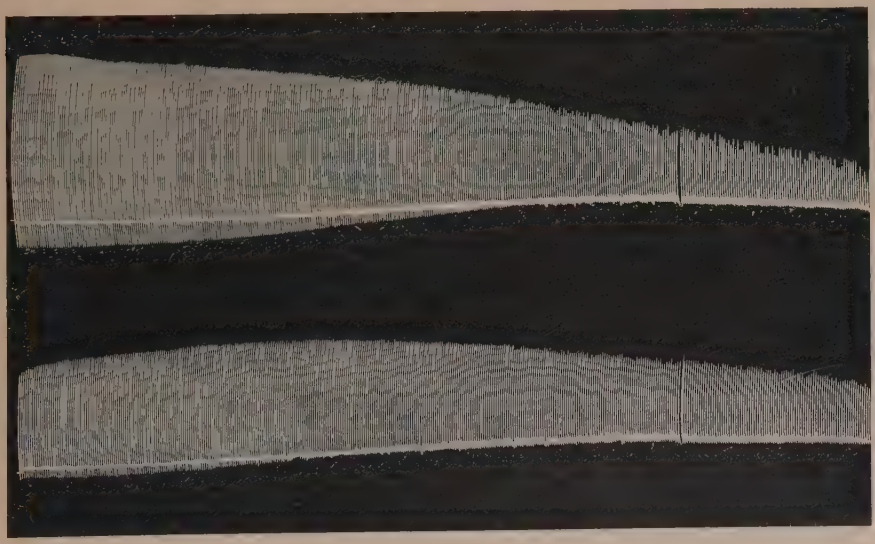


Abb. 5. Versuch 13. Ermüdung durch Einzelreize. Parallele Sartorien, der obere in gewöhnlichem Ringer, der untere in 50 % D_2O-Ringer.

50 %, bzw. 55 % bzw. 47 % derjenigen des Kontrollmuskels. Der Muskel in «schwerer» Ringerlösung leistet also im ersten Teil des Versuchs bedeutend weniger Arbeit als der Kontrollmuskel. Da aber die Hubhöhe des Kontrollmuskels schon um die Hälfte abgesunken ist, während der Muskel in «schwerem» Ringer noch annähernd gleich hoch hebt wie zu Anfang, kommt ein Moment, in dem beide Muskeln gleiche Arbeit leisten, und im zweiten Teil des Versuchs ist die Arbeitsleistung des Muskels in D_2O-Ringer grösser. Die Ermüdung tritt also in D_2O-Ringer weniger rasch ein als in gewöhnlichem Ringer. Dasselbe Resultat ergab Versuch 17 mit 99,2 % D_2O-Ringer. Hier verhielten sich die Hubhöhen in gewöhnlichem und in D_2O-Ringer am Anfang der Kurve wie 24 : 12, nach 600 Zuckungen wie 1 : 2.

In Versuch 13 wurden 30 Minuten nach der ersten Reizserie an den erholten Muskeln nochmals Ermüdungskurven aufgenommen, während die Ringerlösungen gleichzeitig aus einer Bombe mit Sauerstoff durchperlt wurden. Jetzt waren beide Muskeln innerhalb von Reizserien von 400 Einzelreizen, die ohne Sauerstoffdurchperlung zur Ermüdung geführt hatten, praktisch unermüdbar. Die Hubhöhe des Muskels in D_2O-Ringer war, wie in der ersten Reizserie ohne Sauerstoffdurchperlung, gegenüber dem Normalmuskel herabgesetzt.

Die gesamte, während einer Reizserie geleistete Arbeit der beiden Parallelmuskeln ist in der folgenden Tabelle zum Vergleich nebeneinandergestellt. Da Hebelvergrösserung, Belastung und Reizabstand immer für die beiden Vergleichsmuskeln genau gleich waren, lassen sich einfach die Flächen beider Kurven als Mass der geleisteten Arbeit miteinander vergleichen.

	Versuchs-Nr.	*Arbeit in ccm Fläche der Kurve* 1. Muskel	2. Muskel
Kontrollen	11	100	95,5
	15	20	21
Hauptversuche		gewöhnlicher Ringer	D_2O-Ringer
50 % D_2O	12	20	25
50 % D_2O	13	76	73
50 % D_2O	14	23	18
99,2 % D_2O	17	25,85	18,25
99,2 % D_2O	40	15,45	13,25

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, dass die Summe der in einer Ermüdungsserie geleisteten Arbeit in 50 % D_2O-Ringer ungefähr den gleichen Wert erreicht wie in gewöhnlicher Ringerlösung, trotzdem die anfänglichen Hubhöhen sich etwa wie 1 : 2 verhalten. Es darf daraus vermutet werden, dass in beiden Muskeln eine gleiche Menge zur Verfügung stehender Energie in mechanische Arbeit umgewandelt wird, wobei nur die zeitliche Verteilung verschieden ist. Ob dies für hohe Konzentrationen von schwerem Wasser nicht mehr gilt, wie es nach Versuch 17 und 40 den Anschein hat, müssten weitere Versuche erst zeigen.

Ermüdung durch Tetanus. Bei den Versuchen 18 bis 24 wurden die parallelen Muskeln durch eine Reihe von 3 Sekunden langen Tetani mit je 3 Sekunden Pause ermüdet. Es wurde eine Reizstärke gewählt, die knapp unterhalb der Schwelle für Schliessungsinduktionszuckungen lag. Die Kontrollversuche 22, 23 und 24, bei denen beide Muskeln dauernd in gewöhnlicher Ringerlösung arbeiteten, zeigten sehr ähnliches Verhalten beider Muskeln. Auch bei den Hauptversuchen 18 bis 21 wurden zuerst drei Tetani unter gleichen Bedingungen registriert, dann erst beim einen Muskel statt gewöhnlichem Ringer 50 % D_2O-Ringer zugegeben. Nach einer Pause von 10 Minuten begann die Serie der Tetani.

Die Form der einzelnen tetanischen Kontraktionen zeigt unter Einfluss des schweren Wassers eine ähnliche Veränderung wie die Kurve der Ermüdung durch Einzelreize. Während eines einzelnen Tetanus sinkt der Kontrollmuskel bei bestimmter Belastung beträchtlich von der zuerst erreichten Hubhöhe ab; der Muskel in «schwerer» Ringerlösung kontrahiert sich weniger, behält aber diese viel geringere Hubhöhe während der Dauer einer tetanischen Reizung annähernd bei.

In Versuch 18 wurde 30 Minuten nach der ersten Reizserie nochmals mit einer gleichen Serie von Tetani gereizt. Bei beiden Muskeln war eine gewisse Erholung eingetreten. Nachdem am Ende der ersten Reizserie die Hubhöhe auf Null abgefallen war, war jetzt die maximale Hubhöhe des Kontrollmuskels 50 % derjenigen der ersten Serie. Der Muskel in D_2O-Ringer erreichte jetzt eine Hubhöhe, die 27 % derjenigen der ersten Serie betrug. Eine

dritte Reizserie wurde durchgeführt, nachdem die Ringerlösungen beider Muskeln während 5 Minuten mit Sauerstoff durchperlt worden waren. Wieder betrugen die maximalen Hubhöhen, verglichen mit den Werten der ersten Serie, 50 % beim normalen Muskel, 27 % beim Muskel in D_2O-Ringer.

Dehnbarkeit und Elastizität. Die Veränderung der Zuckungskurve in D_2O-Ringer liess daran denken, dass durch das schwere Wasser die elastischen Eigenschaften des Muskels beeinflusst sein könnten. Ein solcher Befund könnte unter Umständen zum Verständnis der verzögerten Erschlaffung beitragen. Daher wurde das Verhalten der Dehnbarkeit und Elastizität nach der Technik von Verzár, Bögel und Szányi[50]) in 50 % und 99,2 % D_2O-Ringer untersucht.

Bei dieser Methode wird die Belastung stufenweise vermehrt, indem alle drei Minuten ein 10 g-Gewicht mehr angehängt wird. Die Muskellänge wird jeweils unmittelbar vor der Erhöhung der Belastung registriert. Da anfangs der Muskel nach kurz dauernder Belastung nicht mehr ganz zur Ausgangslage zurückkehrt, muss erst durch wiederholtes Belasten und Entlasten eine «Nullstellung» aufgesucht werden. Von dieser aus erst wird stufenweise Belastung bis zu 50 g registriert. Die Kontrollversuche 25 und 26 zeigten, dass zwei in Abständen von 4 Stunden aufgenommene Dehnungskurven desselben Muskels nur geringe Abweichungen voneinander zeigen. In Versuch 28 und 29 wurde nacheinander das Verhalten der Dehnbarkeit jedes Muskels in gewöhnlichem Ringer, in 50 Prozent D_2O-Ringer und wieder in gewöhnlichem Ringer untersucht. Versuch

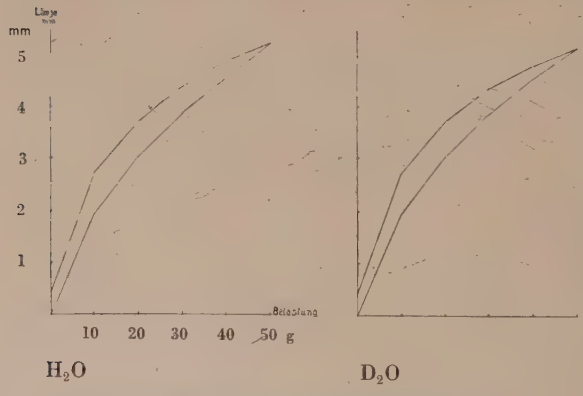


Abb. 6. Sartorins bei stufenweiser Belastung und Entlastung. (30. Versuch.)

30 und 31 wurden mit 99,2 % D_2O-Ringer angestellt, und hier wurde auch im Anschluss an die Dehnung die elastische Wiederverkürzung bei stufenweiser Entlastung (alle 3 Minuten wurden 10 g weggenommen) geprüft. (Abb. 6).

Die auf einem Kymographion registrierten Längenänderungen wurden in einer Kurve als Funktion der Belastung eingetragen. Weder in 50 % noch in 99,2 % D_2O-Ringer ergaben sich Abweichungen von den Kurven in gewöhnlicher Ringerlösung, die die Abweichungen der Kontrollversuche übertreffen. Dehnbarkeit und Elastizität des Muskels, bei Ablesung drei Minuten nach der Belastungsänderung, wird also durch «schweren» Ringer nicht beeinflusst.

c) Diskussion.

Die Kontraktion des quergestreiften Muskels erfährt durch schweres Wasser eine Herabsetzung der Hubhöhe und eine Verzögerung der Eschlaffung. Wieder drängt sich, wie dies durch Barnes und Warren[11]) für die Wirkungen auf das isolierte Herz hervorgehoben wurde, ein Vergleich mit der Wirkung einer Temperaturherabsetzung auf. Bei gleichen Reizstärken zeigt der Muskel auch bei tieferer Temperatur diese beiden Veränderungen: Verminderung der Hubhöhe und Dehnung der Zuckungskurve. Eine Analyse der Wirkung des schweren Wassers dürfte dadurch erschwert sein, dass die Einführung von D_2O an Stelle des gewöhnlichen Wassers in das System Muskel sehr wahrscheinlich gleichzeitig die chemischen und kolloidchemischen Verhältnisse, die in der Gesamtstruktur des Muskels verknüpft sind (Boehm[13]). verändert. Die Beeinflussung einer ganzen Reihe enzymatischer Prozesse durch schweres Wasser, die bereits bekannt ist, lässt eine Aenderung chemischer, speziell enzymatischer Prozesse auch im Muskelchemismus durchaus erwarten. Nach den Abweichungen verschiedener physikalischer Konstanten, die D_2O gegenüber gewöhnlichem Wasser zeigt (besonders Dielektritätskonstante, Viskosität, Quellung von Gelatine) darf aber auch ein Einfluss des schweren Wassers auf die kolloidchemischen Vorgänge, die bei der Muskelkontraktion in Betracht kommen, vermutet werden.

Da sich bei der Untersuchung der Dehnbarkeit und Elastizität des Muskels in «schwerem» Ringer keine Abweichungen vom Normalen ergaben, dürfte die Erklärung für die verzögerte Erschlaffung eher in chemischen als physikalischen Veränderungen zu erwarten sein. Auch der Verlauf der Ermüdungskurven und der Arbeitsleistung lässt sich am besten aus einem verzögerten Ablauf chemischer Vorgänge deuten.

5) Versuche am isolierten Nerven.

Diese Versuche sollten Antwort geben auf die Frage, ob die Leitfähigkeit des isolierten Nerven durch Einlegen in «schwere» Ringerlösung verändert wird.

a) Methodik.

Ein Nervmuskelpräparat (Ischiadicus-Gastrocnemius des Frosches) wurde in einer feuchten Kammer gehalten und das Ende des Nerven über Platinelektroden gelegt. Die zwischen Elektroden und Muskel verlaufende Strecke des Nerven tauchte auf eine Länge von 2 Centimeter in ein flaches, mit Ringerlösung gefülltes Schälchen, dessen Inhalt durch Pipetten ausgewechselt werden konnte. Die Achillessehne war zur Registrierung der Muskelzuckungen mit einem isotonischen Hebel verbunden. Als Stromquelle diente ein über einen Widerstand kurzgeschlossener Akkumulator. Von diesem Stromkreis wurde im Nebenschluss jeweilen für kurze Momente Strom zur Primärspule des Induktoriums geleitet, dessen Sekundärspule mit den Reizelektroden verbunden war.

In regelmässigen Abständen wurde die Schwelle für Oeffnungsinduktionsreize (in Versuch 32 und 33 auch für Schliessungsinduktionsreize) bestimmt, ausgedrückt durch den Rollenabstand des Induktoriums. Die gefundenen Werte wurden in Kurven eingetragen.

b) Ergebnisse.

(Aus Ersparnisgründen musste auf Abbildung dieser Kurven verzichtet werden.)

Die Kontrollversuche 35, 36 und 37 zeigten das Verhalten des Nerven im Normalversuch mit gewöhnlichen Ringerlösungen. In der Mehrzahl der Fälle nimmt die Erregbarkeit des Präparates in den auf die Präparation folgenden Stunden langsam ab. Austausch mit gewöhnlicher Ringerlösung bringt meistens für die nächsten Minuten eine geringfügige Störung im Kurvenbild, ändert aber ihren Gesamtverlauf nicht. Wie nun aus den Kurven der Versuche 32 –34, 38 und 39 hervorgeht, wirkt ein Austausch mit 99,2 % D_2O-Ringer nicht anders als ein gewöhnlicher Ringerwechsel. Als besonders beweisend können die mehrstündigen Versuche 33 und 39 gelten.

Es ergibt sich also aus diesen Versuchen, dass die Leitfähigkeit des isolierten Nerven durch ½—1-stündige Einwirkung von 99,2 % D_2O-Ringer nicht verändert wird.

6) Zusammenfassung.

Es wurde die Wirkung aus schwerem Wasser hergestellter Ringerlösungen auf das isolierte Froschherz, den isolierten quergestreiften Froschmuskel und den isolierten Nerven des Frosches untersucht.

Am Herzen ergeben sich rasch eintretende Herabsetzung der Hubhöhe, Frequenz und Ueberleitungsgeschwindigkeit. Die Wirkung beginnt unterhalb einer Konzentration von 20 % und steigert sich in dem Masse, als das gewöhnliche Wasser der Ringerlösung durch schweres ersetzt wird. Für Frequenz und Hubhöhe wurde gezeigt, dass die innerhalb weniger Minuten erreichten Werte über eine Stunde konstant bleiben. Die Gegenwart schweren Wassers wirkt auf das isolierte Froschherz, selbst in 99-prozentiger Konzentration, nicht als fortschreitende Schädigung, sondern ist vollständig reversibel.

Am Muskel zeigte sich rasch eintretende reversible Verminderung der Hubhöhe, sowohl bei einfacher Zuckung als auch beim Tetanus. Die Zuckungskurve erfährt dabei eine starke Dehnung,

die fast ganz auf den absteigenden Schenkel, die Erschlaffung fällt. Auch dieser Effekt ist vollständig reversibel. Bei der Registrierung von Ermüdungskurven, sowie im einzelnen Tetanus, ergibt sich, dass unter dem Einfluss des schweren Wassers der frische Muskel weniger Arbeit leistet, dass aber auch die Ermüdung langsamer eintritt. In parallel durchgeführten Ermüdungsserien war die Gesamtarbeitsleistung des Muskels in 50 % D_2O-Ringer dieselbe wie in gewöhnlicher Ringerlösung. Dehnbarkeit und Elastizität des Muskels erwiesen sich in D_2O-Ringer unverändert.

Die Leitfähigkeit des Nerven, geprüft an der Reizschwelle des zugehörigen Muskels, wurde durch Einlegen in D_2O-Ringer nicht geändert.

Für die Anregung und Leitung dieser Arbeit spreche ich Hrn. Prof. Dr. Verzár meinen besten Dank aus. Ebenso danke ich Hrn. cand. med. H. Wirz für seine eifrige Mithilfe bei einem Teil der Versuche, sowie dem Verlag Springer, Berlin, der mir die Klischees einiger in Pflügers Archiv publizierter Abbildungen bereitwilligst zur Verfügung stellte.

IV. Literatur.

Uebersichten:

1. Brandt, W., Klin. Wschr. 1934/II, 1009.
   1935/I, 521.
2. Farkas, L., Naturwiss. 1934, 614, 640, 658.
3. Frerichs, R., Naturwiss. 1934, 113.
4. Hevesy, G. v., Naturwiss. 1935, 775.
5. Polányi, M., Nature 1935/I, 19.
6. Schön, M., Münch. med. Wschr. 1934/II, 1277.
7. Urey, H. C., Cold Spring Harbor Symposia on quant. Biol. 2, 47, 1934.

Uebrige Arbeiten:

8. Anderson, R. S. und E. N. Harvey, J. Cellul. a. comp. Physiol. **5,** 249, 1934.
9. Barnes, T. C. und H. Z. Gaw, J. amer. chem. Soc. **57,** 590, 1935.
10. Barnes, T. C. u. E. J. Larson, Protoplasma (Berlin) **22,** 431, 1934.
11. Barnes, T. C. und J. Warren, Science (N. Y.) **81,** 346, 1935.
12. Barnes, T. C., Nature 1934/II, 573.
13. Boehm, G., «Muskel», in Medizinische Kolloidlehre (herausgegeben v. Lichtwitz, Liesegang und Spiro) S. 657.
14. Bonhoeffer, K. F., Z. Elektrochem. **40,** 469, 1934.
15. Brandt, W., und H. Reindell, Klin. Wschr. 1936/I. 260.
16. Brandt, W. Klin. Wschr. 1935/II, 1453.
17. Brandt, W. Klin. Wschr. 1935/II, 1597.
18. Brun, J. und L. Tronstad, Norweg. Akad. Ber. **7,** 1, 1935.
19. Curry, I. R. Pratt und S. F. Trelease, Science (N. Y.) 1935/I, 275.
20. McDougall, J. E., F. Verzár, H. Erlenmeyer und H. Gaertner, Nature 1934/II, 1006.
21. Erlenmeyer, H. und H. Gaertner, Helvet. chim. Acta, **17,** 30, 334, 1934.
22. Ferao, A. und Y. Inoue, Proc. imp. Acad. (Tokyo) **10,** 513, 1934.
23. Hansen, K. und E. Blegen, Klin. Wschr. **31,** 1113, 1935.
24. Hansen, K. und E. Rustung, Klin. Wschr. **42,** 1489, 1935 und **43,** 1521, 1935.
25. Harvey, E. N., Biol. Bull. **66,** 91, 1934.
26. Hevesy, G. v. und E. Hofer, Nature 1934/I, 495, und 1934/II, 879. Hoppe-Seylers Z. **225,** 28, 1934. Klin. Wschr. 1934/II, 1524.
27. Hevesy, G. v., E. Hofer und A. Krogh, Skandinav. Arch. f. Physiologie, **72,** 199, 1935.
28. Klar, R. Nature 1934/I, 134.
29. Küchler, Z. f. Elektrochem. **40,** 474, 1934 (Disk. bem.)
30. Lachs, H. und I. Minkow, Nature, **136,** 186, 1935.
31. Lewis, G. N., J. amer. chem. Soc. **55,** 503, 1933.
32. Lewis, G. N., Science (N. Y.) 1934/I, 151.
33. Lockemann G. und H. Leunig, Ber. dtsch. chem. Ges. **67,** 1299, 1934.

34. Lucké, B. und F. N. Harvey, J. cellul. a. comp. Physiol. **5,** 473, 1935.
35. Macht, D. J. und M. E. Davis, J. amer. chem. Soc. **56,** 246, 1934.
36. Meyer, S. L., Science (N. Y.) 1934/I, 210.
37. Meyer, S. L., Nature (London) 1934/II, 665.
38. Pacsu, E., J. amer. chem. Soc. **56,** 745, 1934.
39. Plantefol, L. und G. Champetier, C. r. Acad. Sci. Paris, **200,** 423, 1935.
40. Plantefol, L., und G. Champetier, C. r. Acad. Sci. Paris, **200,** 587, 1935.
41. Rea, Ch. E. und S. Yuster, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **31,** 1058, 1934.
42. Reitz, O. u. K. F. Bonhoeffer, Z. physik. Chem. A **172,** 369, 1935.
43. Richards, O. W., J. Bact. **28,** 289, 1934.
44. Rothberger, C. J., Ergebnisse d. Physiol. **31,** 427, 1931.
45. Steacie, E. W. R., Z. physik. Chemie **28,** 236, 1935 u. B **27,** 6, 1934.
46. Sugiura, K. und L. C. Chesley, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **31,** 659, 1934.
und **31,** 1108, 1934.
47. Taylor, H. S., W. W. Swingle, H. Eyring und A. A. Frost, J. cellul. a. comp. Physiol. **4,** 1, 1933.
48. Urey, H. C. und G. K. Teal, Reviews of modern Physics, **7,** 34, 1935.
49. Ussing, H., Skandinav. Archiv f. Physiol. **72,** 192, 1935.
50. Verzár, F., J. Bögel und W. Szányi, Bioch. Zschr. **132,** 64, 1922.
51. Verzár F. und C. Haffter, Pflügers Arch. **236,** 714, 1935.
52. Woglom, W. H. und L. A. Weber, J. amer. med. Assoc. **102,** 1389, 1934.
53. Woodard und Chesley, J. amer. chem. Soc. **56,** 2562, 1934.